

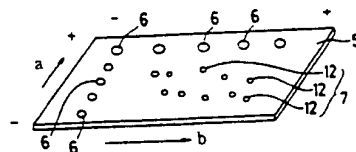
JP 361026848 A  
FEB 1986

## 654 TWO-DIMENSIONAL ELECTROPHORESIS DEVICE

(11) 61-26848 (A1) (43) 6.2.1986 (19) JP  
 (21) Appl. No. 59-148978 (22) 17.7.1984  
 (71) SHIMADZU CORP (72) JUNICHI AKIYAMA  
 (51) Int. Cl. G01N27/26

**PURPOSE:** To measure migration spots with high precision by adding comparison samples in a flat plate gel after secondary electrophoresis and generating the calibration line between the dye concentration and weight of the comparison samples of every secondary gell.

**CONSTITUTION:** Plural comparison samples 6 whose weight is already known as well as an object of detection are added in the gell 5 after secondary electrophoresis. Each migration spot 12 of the object of detection separated in the secondary gel 5 and each comparison sample 6 are dyed in silver at the same time and dye concentration values of both objects are measured. Then, a calibration line which decreases in dye concentration proportionally; from light weight to heavy weight is generated only for the comparison sample 6. Then, the weight corresponding to dye concentration on the calibration line corresponding to the dye concentration of each migration spot 12 of the object of detection is measured by calculation.



a: charge amount. b: molecular weight

204/612

204/612



⑩ 日本国特許庁(JP) ⑪ 特許出願公開  
⑫ 公開特許公報(A) 昭61-26848

⑬ Int.Cl.<sup>4</sup>  
G 01 N 27/26

識別記号 庁内整理番号  
C-7363-2G

⑭ 公開 昭和61年(1986)2月6日

審査請求 未請求 発明の数 1 (全3頁)

⑮ 発明の名称 二次元電気泳動装置

⑯ 特 願 昭59-148978

⑰ 出 願 昭59(1984)7月17日

⑱ 発 明 者 秋 山 純 一 京都市中京区西ノ京桑原町1番地 株式会社島津製作所三  
条工場内

⑲ 出 願 人 株式会社島津製作所 京都市中京区河原町通二条下ル一ノ船入町378番地

⑳ 代 理 人 弁理士 野河 信太郎

明 細 書

1. 発明の名称

二次元電気泳動装置

2. 特許請求の範囲

1. 二次元目のゲル、一次元目の電気泳動終了後の被検試料の被検対象を前記ゲルの二次元目の方向へ泳動分離する二次元目の泳動分離手段、前記被検対象と同じでかつ重量既知で異なる重量の複数の比較試料を二次元目のゲルに二次元目の泳動分離終了後にその二次元目の分離方向又は一次元目の分離方向のいずれか一方又は両方に向けてスポット状に添加する添加手段、これらの比較試料及び被検対象を染色しこれら両者の染色濃度を計測する染色度計測手段、この染色度計測手段から出力される染色度信号に基づいて各比較試料の重量と染色濃度との検量線を作成し記憶する作成記憶手段、及びこの作成記憶手段から出力される記憶信号に基づいて被検対象の各泳動スポットの重量を演算する演算手段を備えてなる二次元電気泳動装置。

3. 発明の詳細な説明

(イ) 産業上の利用分野

この発明は二次元電気泳動装置に関し、詳しくは被検対象の定量精度を向上できる二次元電気泳動装置に関する。

(ロ) 従来技術

従来の二次元電気泳動装置における試料中の被検対象の重量測定は、二次元目の電気泳動終了後にその平板ゲル内に分離された被検対象の泳動スポットを銀染色法、クマレーブルー法などで染色して、その染色度の濃淡を光学的、例えば吸光法により計測することによって得られた光学情報をコンピュータで量の情報に演算して行なっていた。

しかし、この方法では、被検試料のロット毎に、被検対象の泳動スポットの染色濃度が相違したり、また、二次元目のゲル、染色試薬、染色時の温度などが変わると上記の泳動スポットの重量が同じでもその染色濃度が異なったりして、各泳動スポットの定量精度が低下していた。

(ハ) 目的

この発明は以上の事情に鑑みなされたもので、その主要な目的の1つは、二次元目の電気泳動終了後の平板ゲル内に被検対象と同じで重量既知の比較試料を添加しておいて、比較試料の染色濃度と重量との検査線を二次元目のゲル毎に作成して、被検試料のロット毎に染色濃度が相違しても被検対象の各泳動スポットを高精度に定量測定できるようにすることにある。

## (二) 構成

この発明は、二次元目のゲル、一次元目の電気泳動終了後の被検試料の被検対象を前記ゲルの二次元目の方向へ泳動分離する二次元目の泳動分離手段、前記被検対象と同じでかつ重量既知で異なる重量の複数の比較試料を二次元目のゲルに二次元目の泳動分離終了後にその二次元目の分離方向又は一次元目の分離方向のいずれか一方又は両方に向けてスポット状に添加する添加手段、これらの比較試料及び被検対象を染色しこれら両者の染色濃度を計測する染色度計測手段、この染色度計測手段から出力される染色度信号に基づいて各比

較試料の重量と染色濃度との検査線を作成し記憶する作成記憶手段、及びこの作成記憶手段から出力される記憶信号に基づいて被検対象の各泳動スポットの重量を演算する演算手段を備えてなる二次元電気泳動装置である。

## (ホ) 実施例

以下図に示す実施例に基づいてこの発明を詳述する。なお、これによってこの発明が限定されるものではない。

第1図において二次元電気泳動装置(1)は、作成記憶手段(2)、演算手段(3)及び添加手段(4)とから主として構成される。

作成記憶手段(2)及び演算手段(3)はマイクロコンピュータ(C)からなり、二次元目の長方形ゲル(5)の上方から発光され、そのゲル(5)内の後述する染色後の試料(6)(7)を透過した測光(8)を受光してそれらの試料の染色濃度を計測する染色度計測手段(9)に電気的に接続されている。この計測手段は発光部(図示省略)、受光部(10)及び測光信号処理部(11)からなるデンストメータで構成されている。

作成記憶手段(2)は前記計測手段(9)から出力される染色度信号に基づいて前記試料(6)(7)のうち重量既知の比較試料(6)の重量と染色濃度との検査線を作成するよう構成されている。一方、演算手段(3)は、作成記憶手段(2)から出力される記憶信号及び前記染色度信号に基づいて前記試料(6)(7)のうち重量未知の被検試料(7)の重量を演算するよう構成されている。

添加手段(4)は、ピペット、シリンジなどで構成されている。

次に上記装置において、被検試料(7)中の被検対象、例えば血清中の蛋白質の重量を定量測定する方法を説明する。

まず、第2図に示すように、二次元目の電気泳動終了後のゲル(5)内に、被検対象と同じで重量既知の複数の比較試料(6)をスポット状に添加する。これらの比較試料(6)はそれらの重量がそれぞれ異なり、例えば $10^{-10}$ g $\sim 10^{-6}$ gのものが用いられ、重い順に二次元目ゲル(5)の分子重量レベル方向(二次元方向)に向かって並べられている。そして、

二次元目ゲル(5)内に分離された被検対象の各泳動スポット(12)と各比較試料(6)とを同時に銀染色してこれらの両者の染色濃度を計測する。次いで、比較試料(6)のみについてその重量が軽い方から重い方に向かってその染色濃度が比例して薄くなる検査線(A)を作成する(第3図参照)。そして、被検対象の各泳動スポット(12)の染色濃度に対応する染色濃度を検査線(A)上にとり、これに対応する重量を演算測定する。

また、二次元目のゲル(5)の荷電量レベル方向(一次元方向)に前記の比較試料(6)を第2図のごとく添加してもよい。この場合、第3図の破線のように検査線(B)を上記と同様に作成して被検対象の重量を測定する。

さらに、比較試料(6)を添加する位置によって検査線の勾配が変わることが考えられる場合は、比較試料(6)を第2図のごとく二次元目のゲル(5)の間接近傍ではなく、ゲル(5)の一次元方向及び二次元方向における被検対象の各泳動スポット(12)の近傍にそれぞれ添加して行ってもよい。

以上のような比較試料を用いて二次元目のゲル交換毎に検査線を作成して、被検対象の各泳動スポットを定量測定することによって、染色濃度が被検試料のロット毎に相違しても、また、二次元目のゲル、染色時の温度、染色試薬などが変化しても、同一条件で染色濃度を計測できるため、被検対象の各泳動スポットの定量精度を向上させることができる。

(ハ) 効果

この発明は二次元目の平板ゲルにその一次元方向又は二次元方向に向けて重量既知の複数の比較試料を添加し、これらの比較試料の重量と染色濃度との検査線を作成し、この検査線に基づいて被検対象の各泳動スポットの重量を演算したものであるから、被検試料ロット間の染色濃度が相違しても被検対象の各泳動スポットを高精度に定量測定でき、しかも二次元目のゲル、染色試薬、染色時の温度などが変わっても同精度で各泳動スポットを定量測定できる。

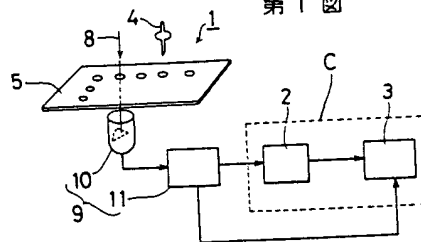
4. 図面の簡単な説明

第1図はこの発明に係る二次元電気泳動装置の一実施例を示す要部構成説明図、第2図はこの比較試料添加状態を示す二次元目のゲル斜視図、第3図はこの検査線グラフである。

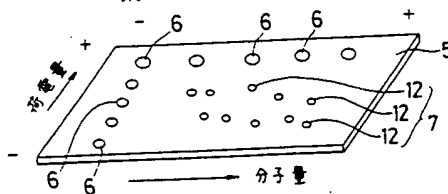
(1)…二次元電気泳動装置、(2)…作成記憶手段、(3)…演算手段、(4)…添加手段、(5)…二次元目のゲル、(6)…比較試料、(7)…被検試料、(9)…染色度計測手段、(12)…被検対象の泳動スポット、  
(A)(B)…検査線。

代理人 弁理士 野 河 信 太 郎

第1図



第2図



第3図

